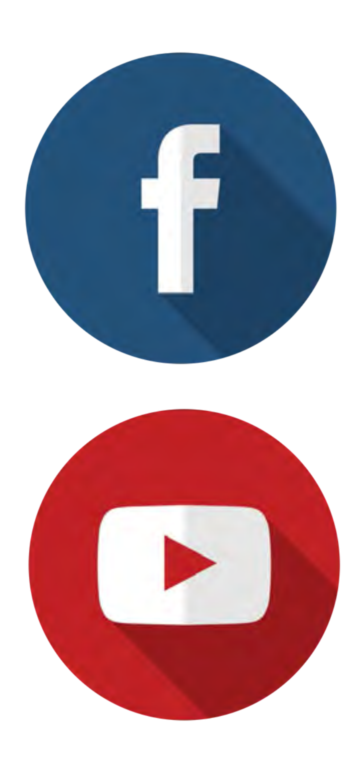
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful





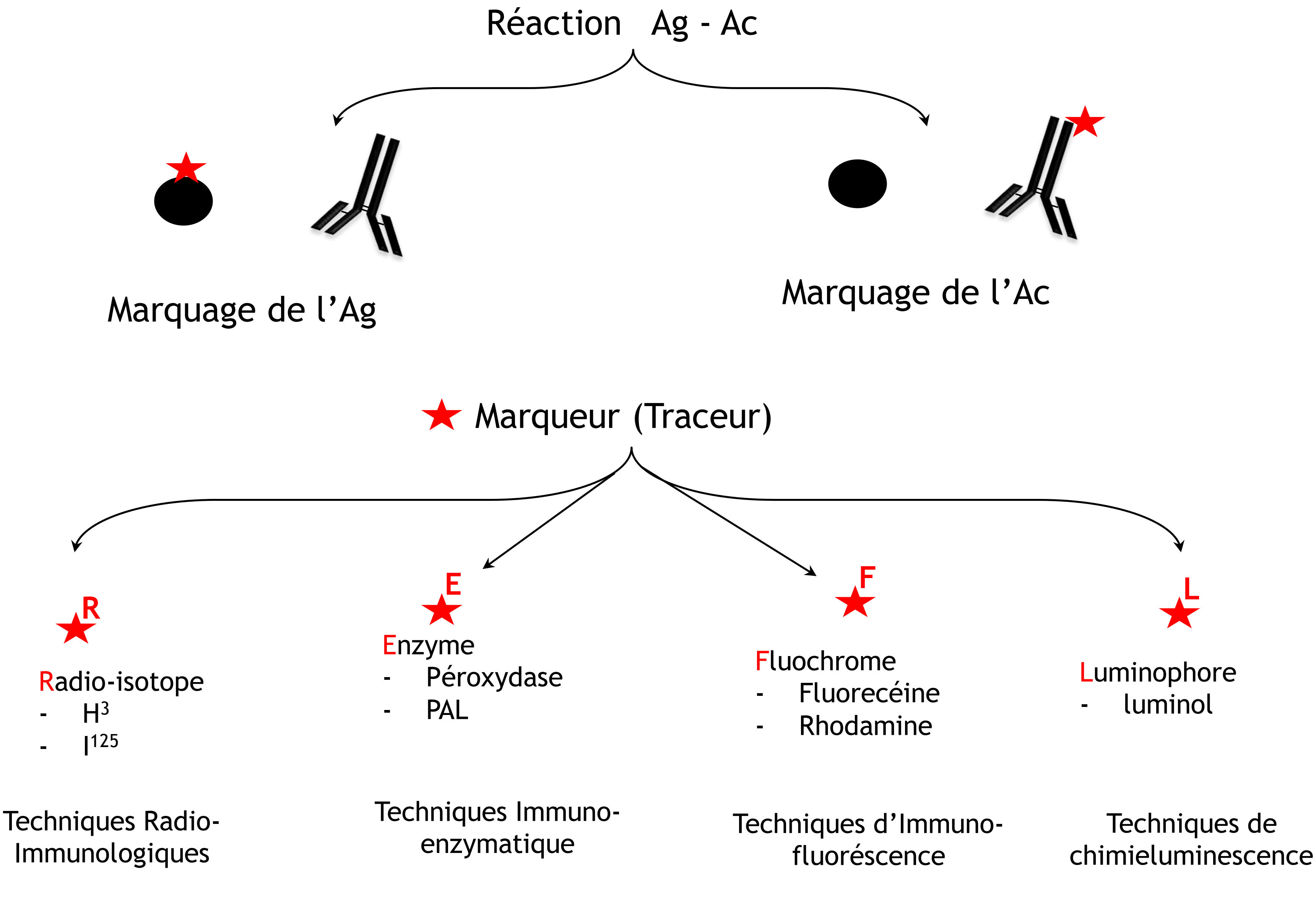


FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

MODULE D'IMMUNOLOGIE

Techniques utilisant un marqueur

Principes des Techniques utilisant un Marquage



Principes des Techniques utilisant un Marquage

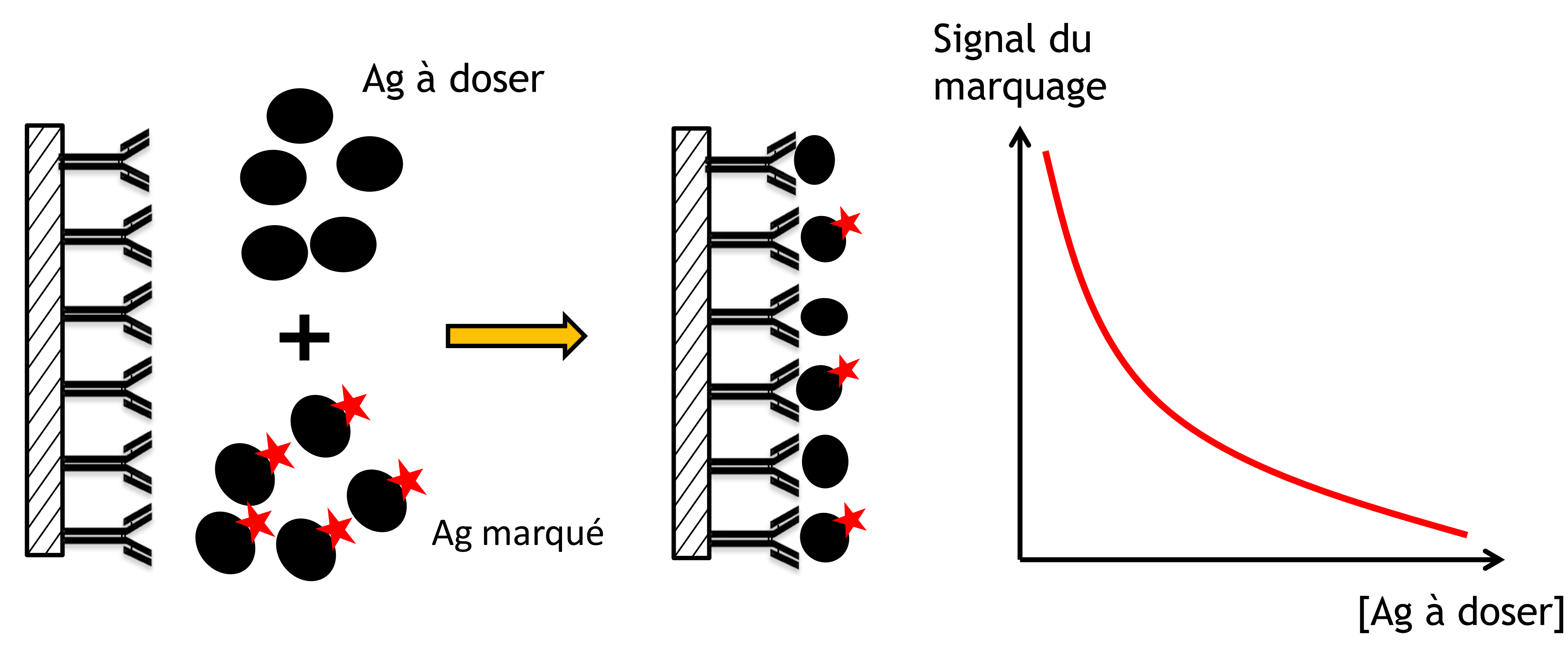
Les marqueurs (Traceurs)



Permettent de déceler des quantités faibles de la cible (Ag ou Ac)

Principes des Techniques utilisant un Marquage

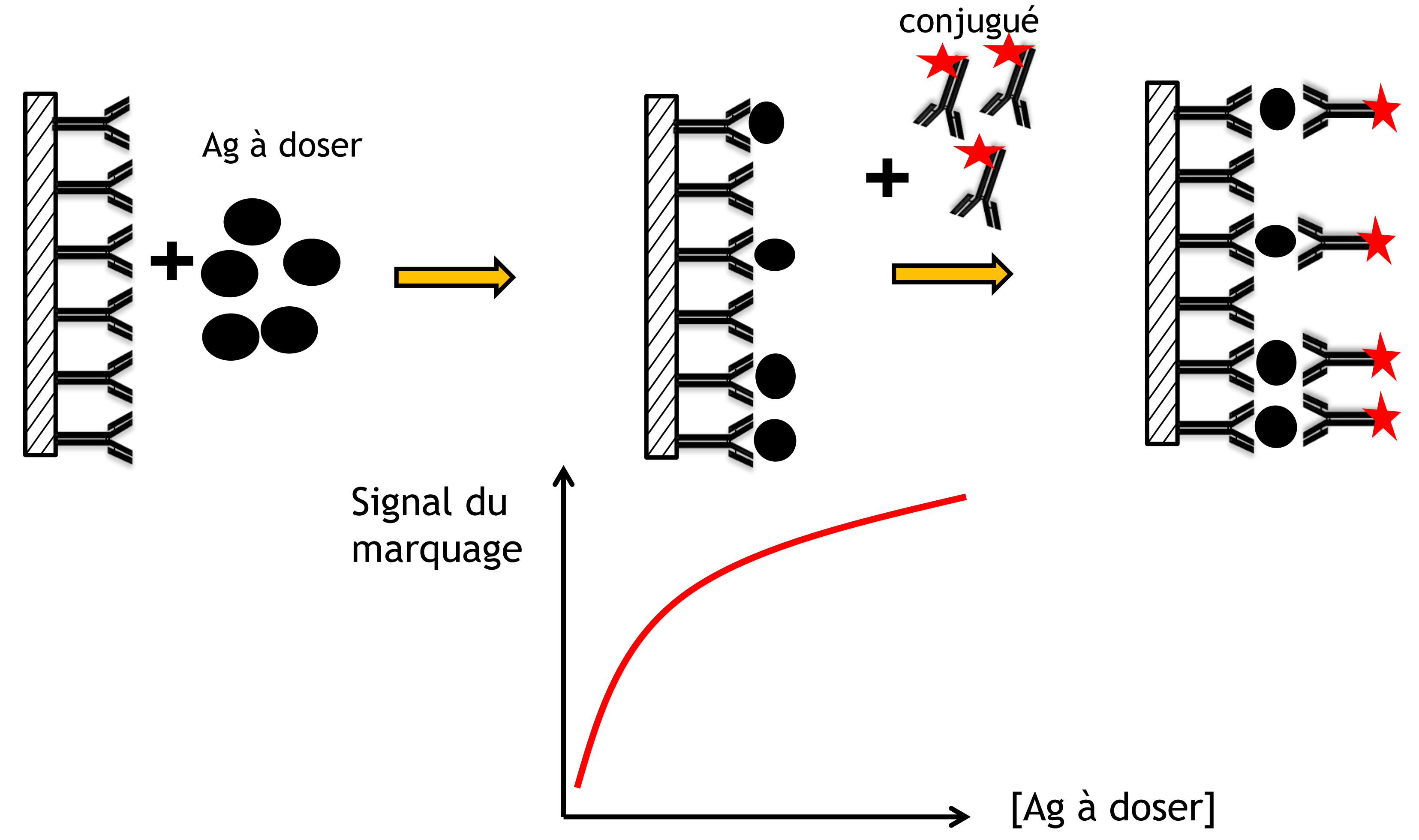
Méthodes par compétition (RIA, EIA, FIA)



L'activité mesurée est inversement proportionnelle à la concentration de l'Ag présent dans l'échantillon

Principes des Techniques utilisant un Marquage

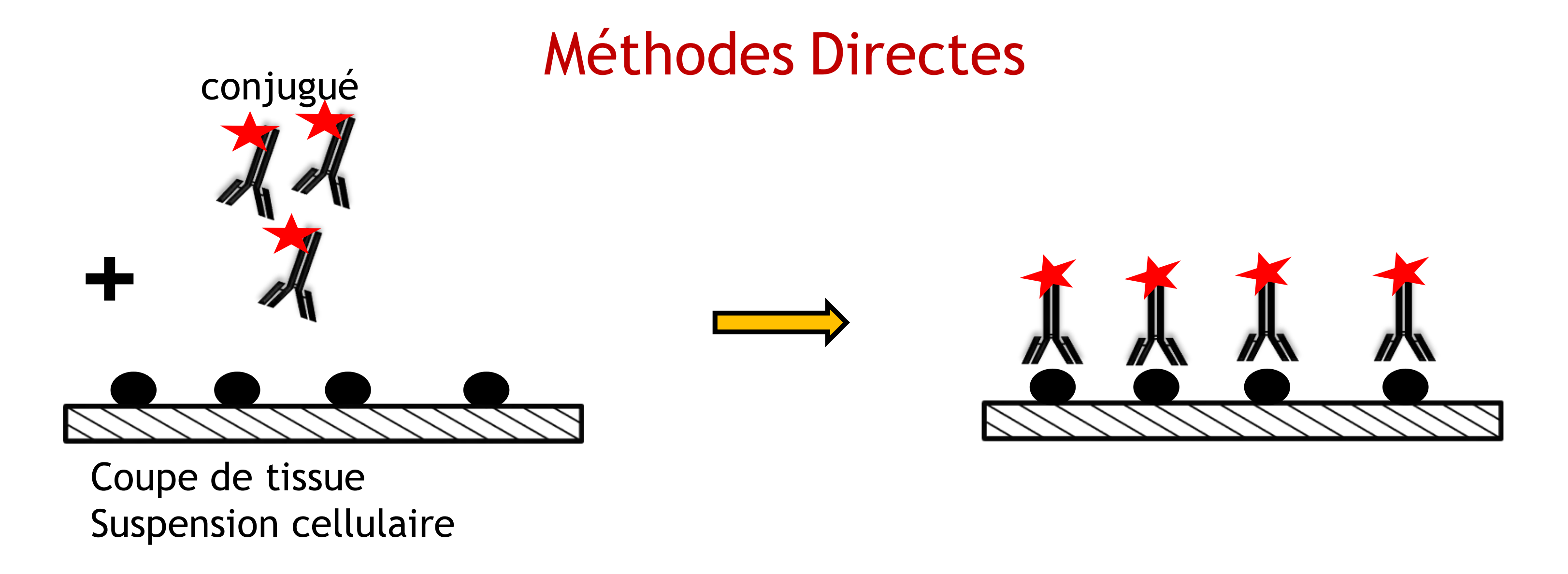
Méthodes Sans compétition (Sandwich) (IRMA, ELISA, IFMA)



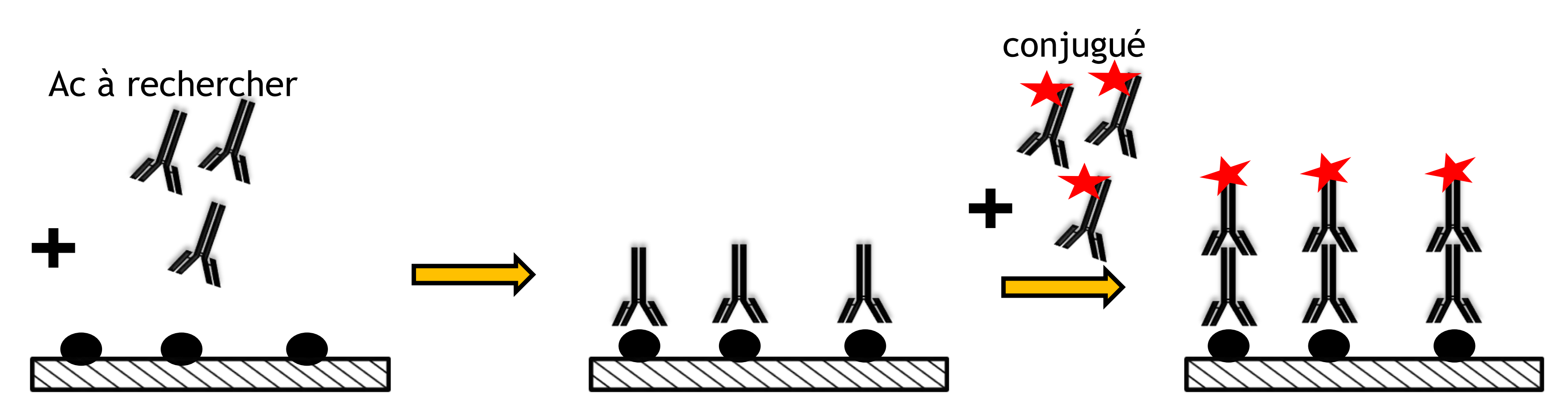
L'activité mesurée est proportionnelle à la concentration de l'Ag présent dans l'échantillon

Principes des Techniques utilisant un Marquage

Méthodes Directes



Méthodes Indirectes



Techniques radio-immunologiques

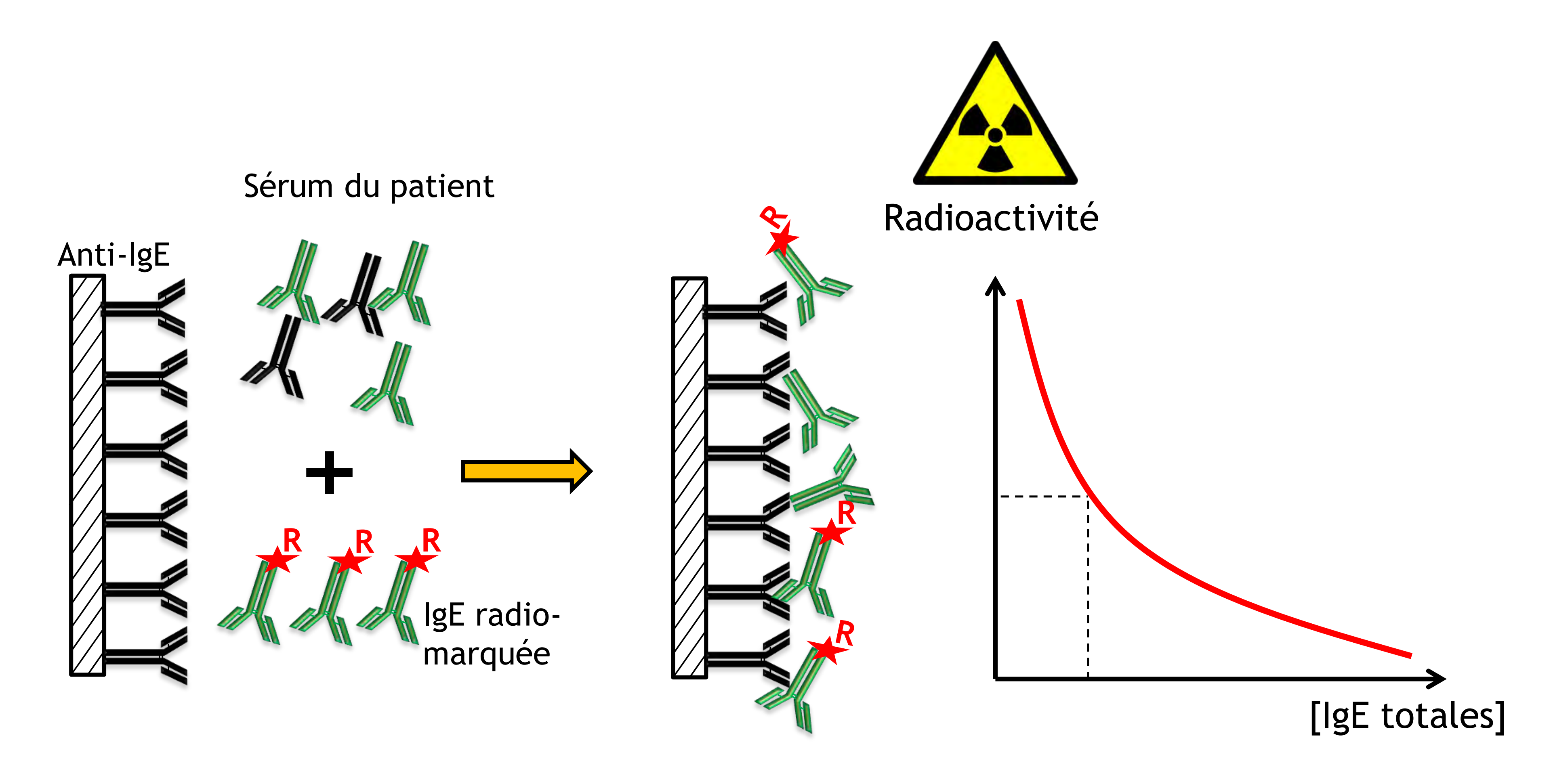
- Radio-isotopes: marqueurs très sensibles.

- Initialement développé pour le dosage d’insuline puis d’autres hormones.

- Progressivement supplanté par d’autres marqueurs non isotopiques offrant une plus grande facilité d’emploie sans les restrictions réglementaires liées à la manipulation des produits radioactifs

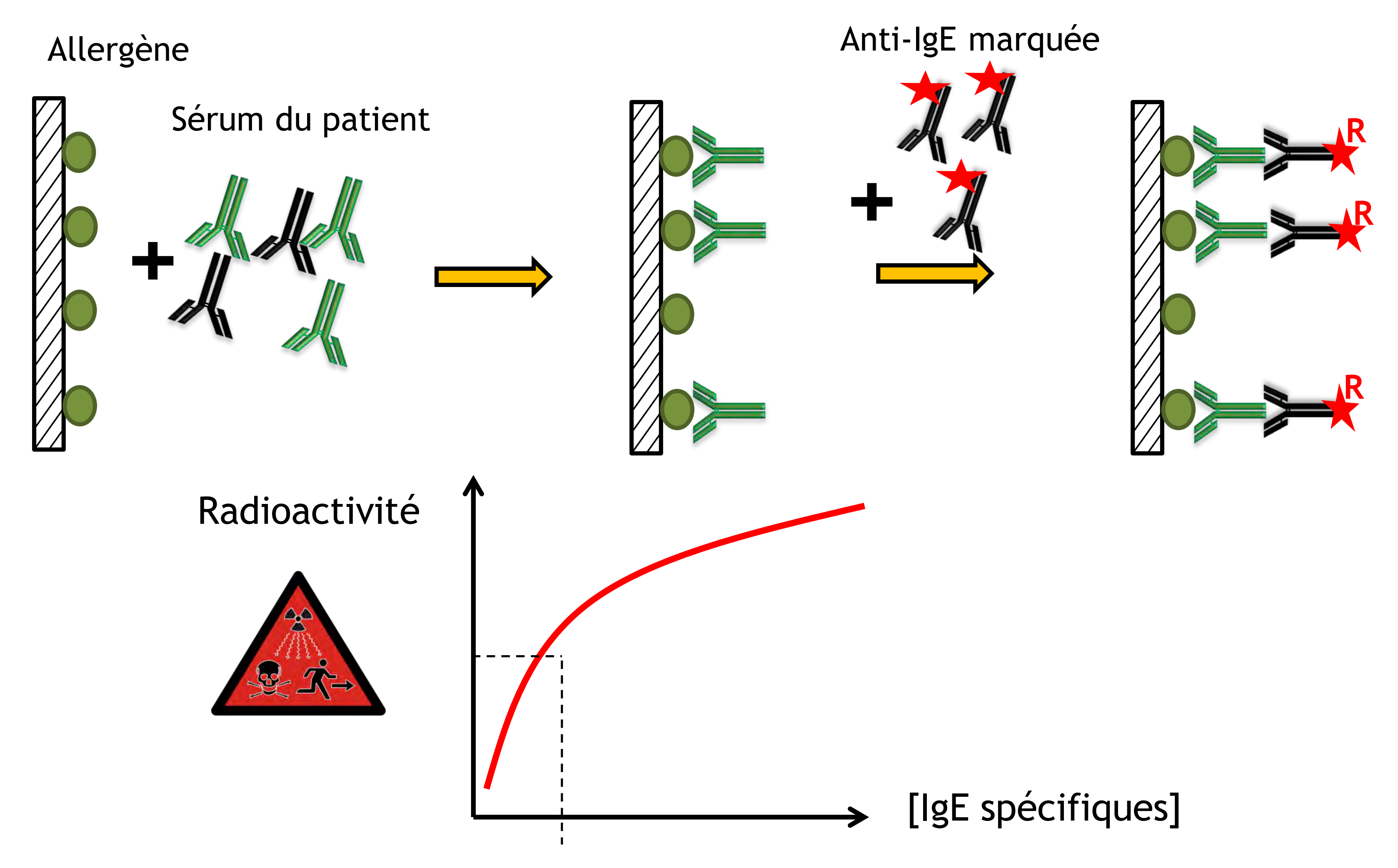
Techniques radio-immunologiques

Ex : RIST
(Radio Immuno-Sorbent Test)



Techniques radio-immunologiques

Ex : RAST
(Radio Allergo-Sorbent Test)



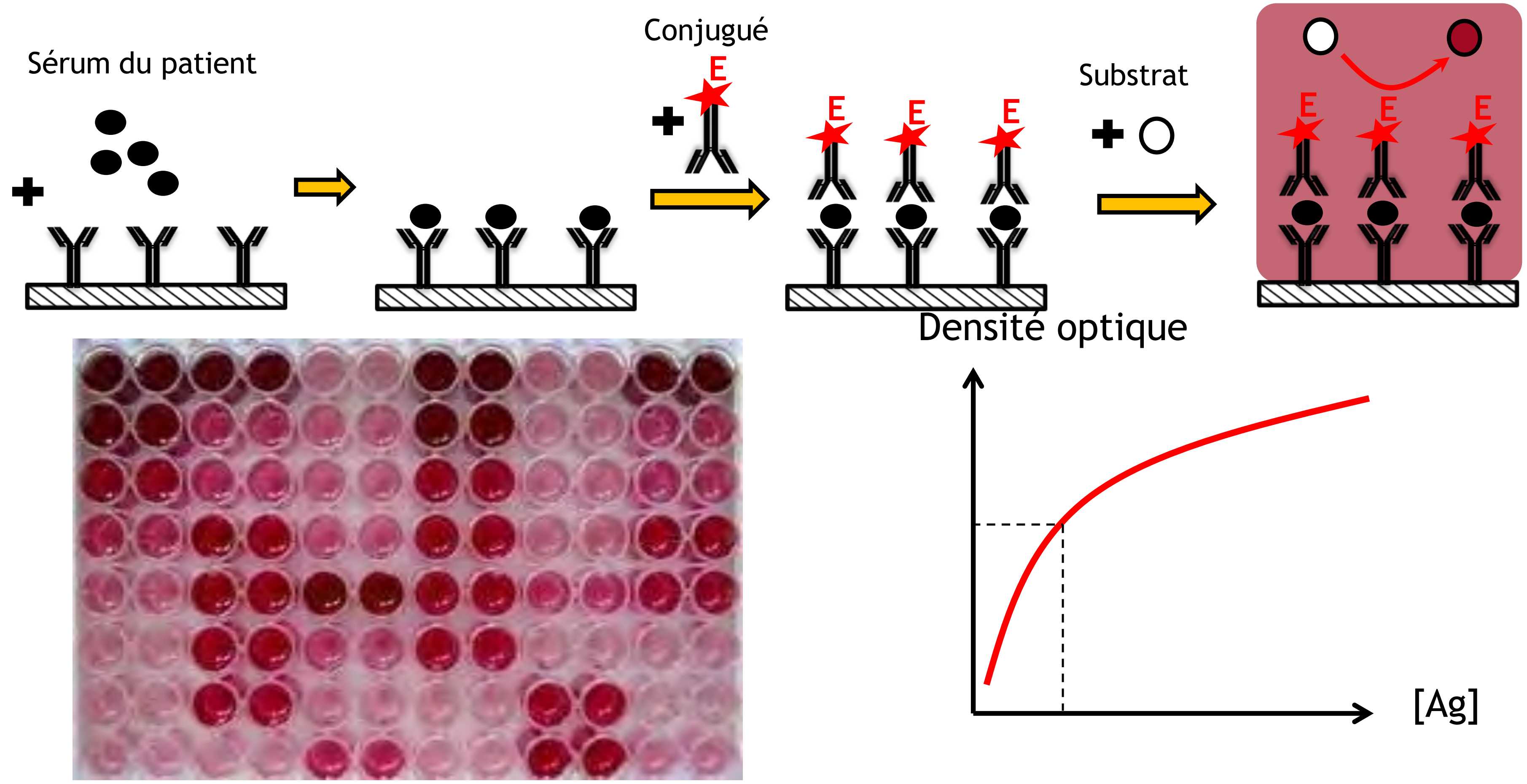
Techniques Immuno-enzymatiques

Les enzymes comme traceur:

- Introduits comme alternatifs aux radio-isotopes.
- Stables.
- Catalysent des réactions irréversibles.
- Résistants aux interférences, et faciles à conjuguer sans perte d'activité.

Techniques Immuno-enzymatiques

ELISA Sandwich
(Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay)

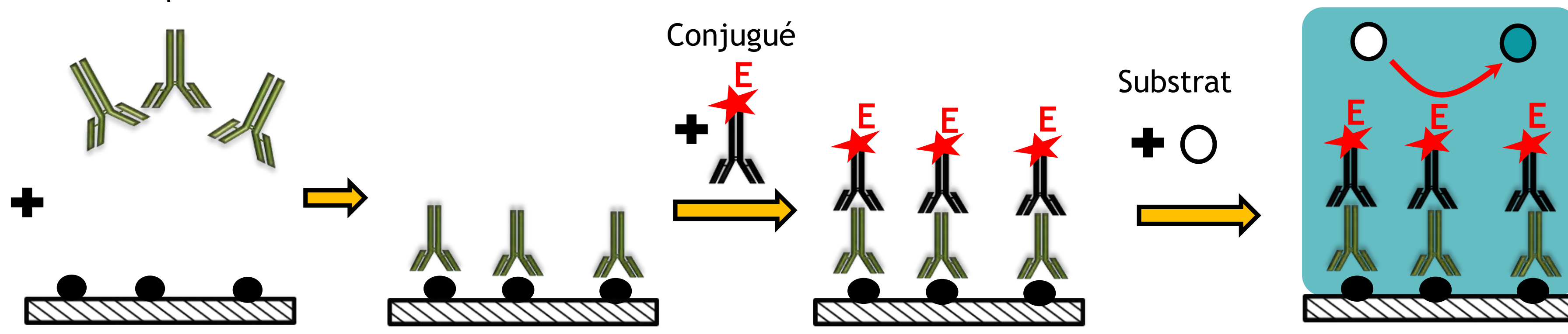


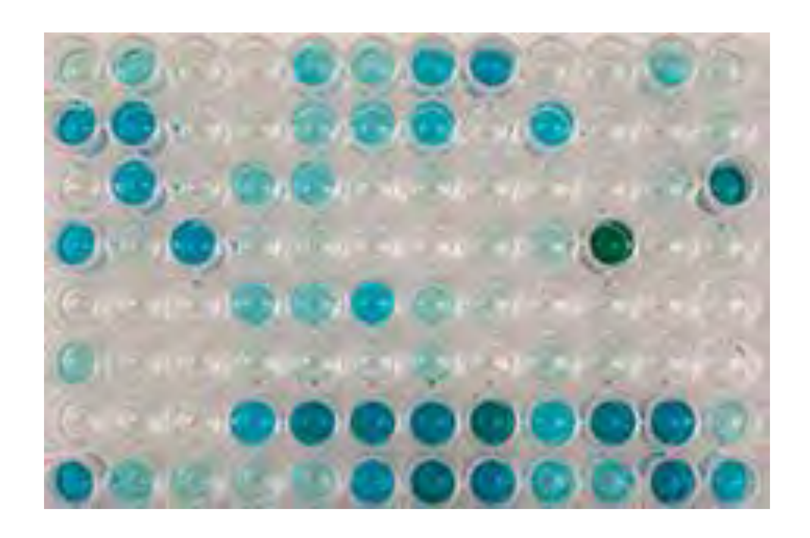
La mesure est réalisée à l'aide d 'un spectrophotomètre.

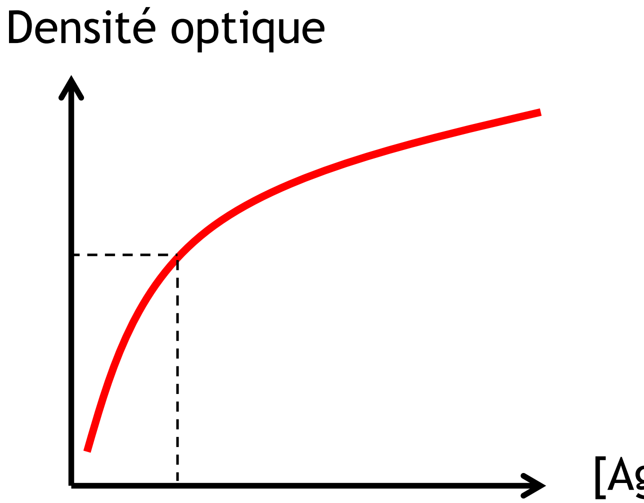
Techniques Immuno-enzymatiques

ELISA Indirecte



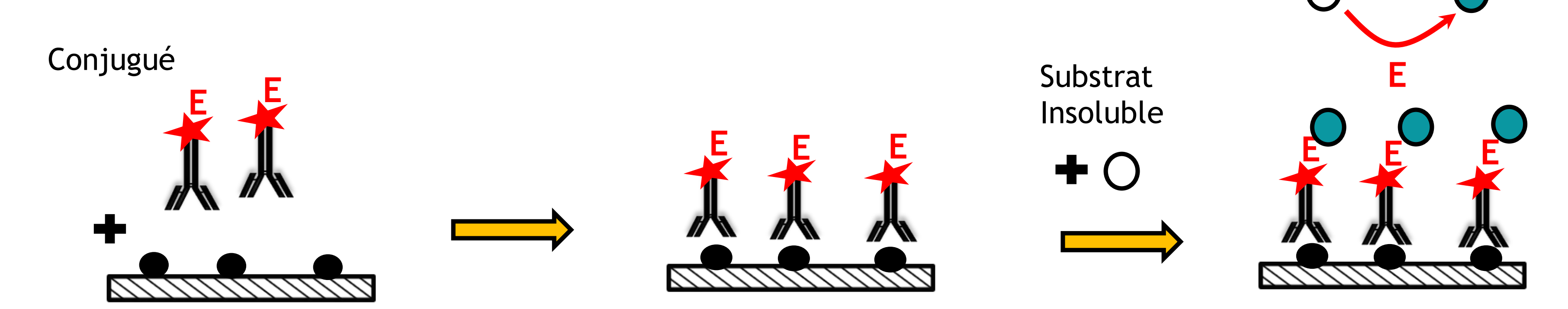


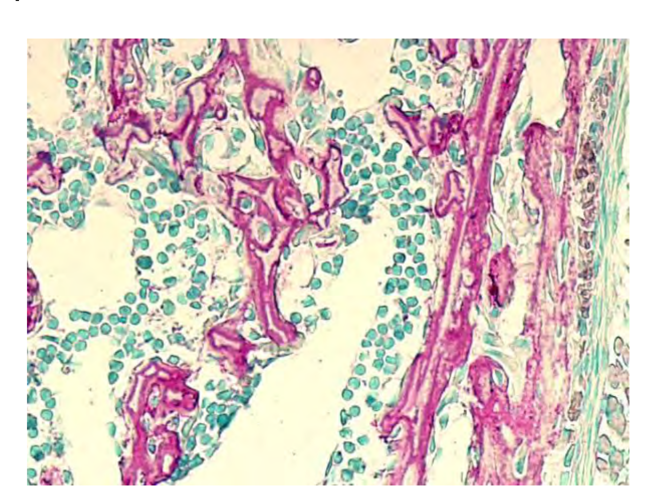


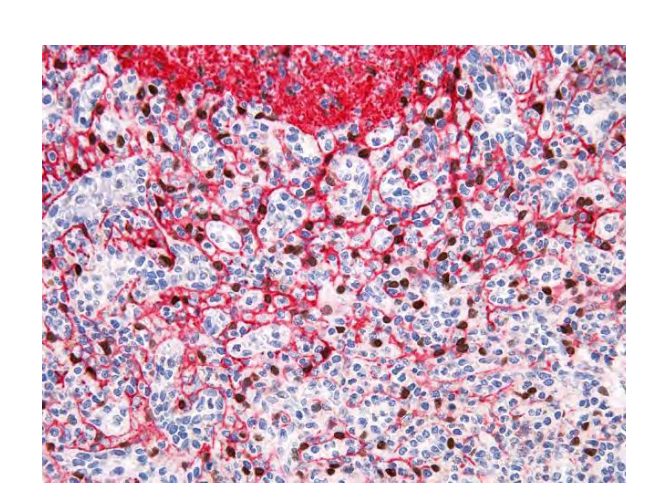


Techniques Immuno-enzymatiques

techniques immuno-enzymatiques directes (Immunohistochimie et immunocytochimie)

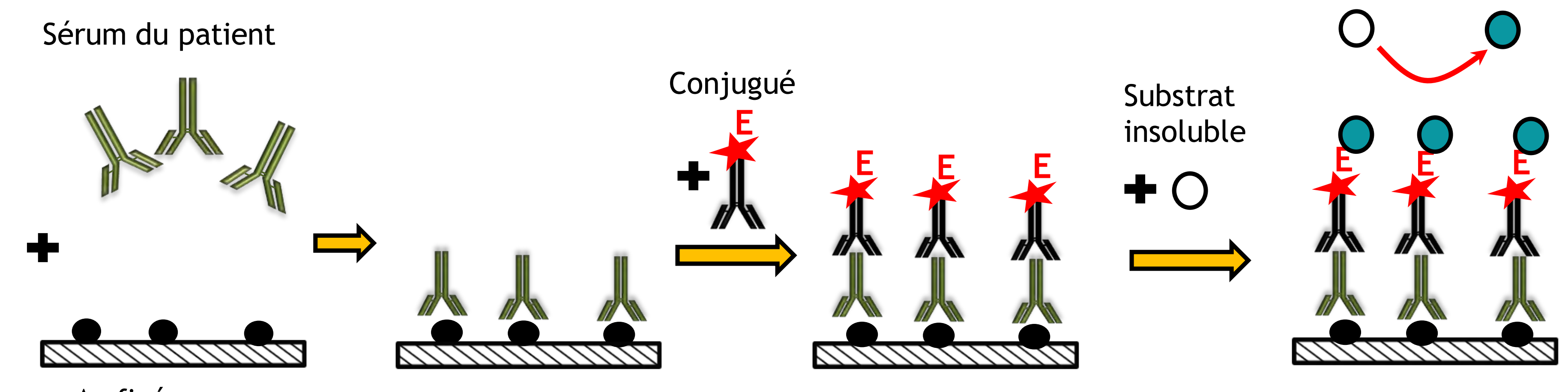


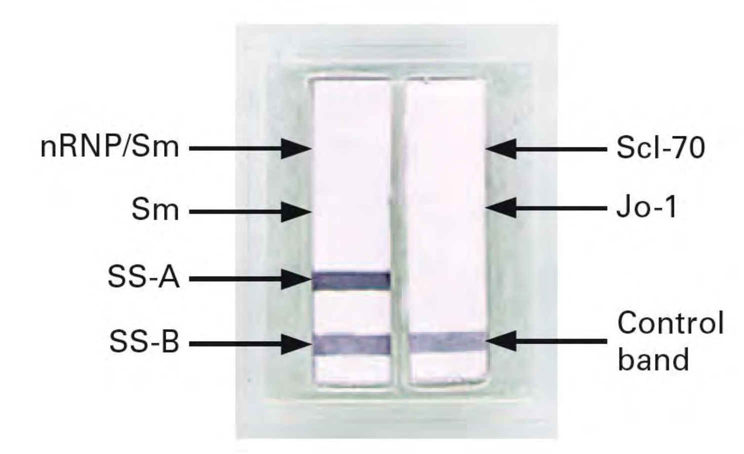




Techniques Immuno-enzymatiques

techniques immuno-enzymatiques Indirectes (Immuno-dot et Immuno-blot)





Techniques Immuno-enzymatiques

- l'ELISA est une technique sensible, rapide, adaptée à la réalisation de grandes séries de dosage

- l'ELISA est très utilisée pour le sérodiagnostic des maladies infectieuses et pour le diagnostic et le suivi de maladies auto-immunes.

Techniques d'Immunofluorescence

Un fluorochrome:

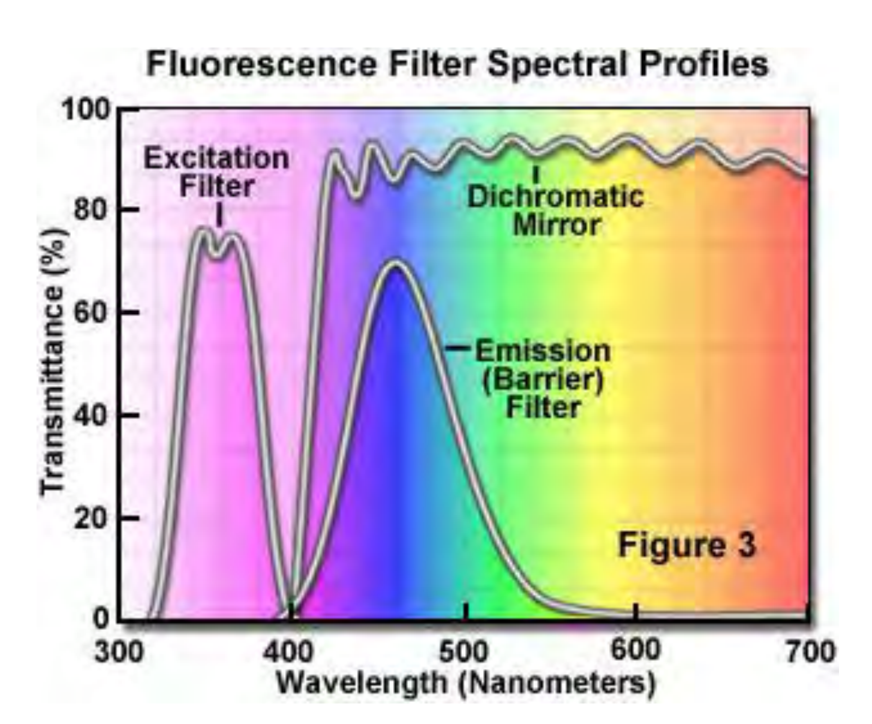
substance capable d'absorber l'énergie d'une source lumineuse et d'émettre un rayonnement d'une longueur d'onde supérieure

Deux longueurs d'onde différentes pour chaque fluorochrome: excitation et émission.

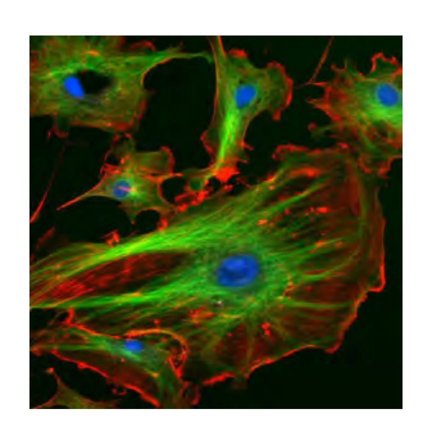
Le développement majeur des techniques d'immunofluorescence réside dans le fait qu'un nombre croissant de fluorochromes ont été développés, excitables par la même lumière mais émettant dans des longueurs d'onde différentes.

Techniques d'Immunofluorescence

Principe de la fluorescence

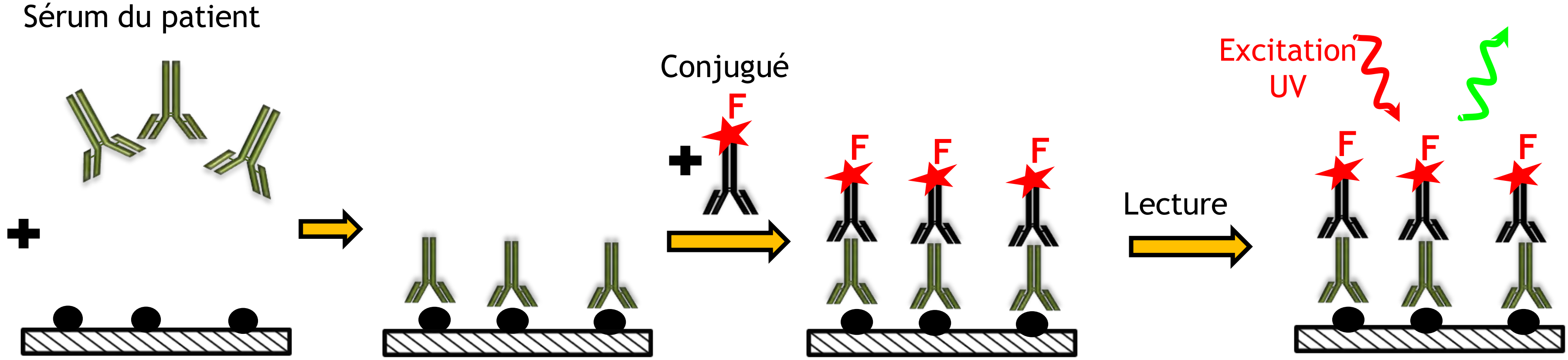


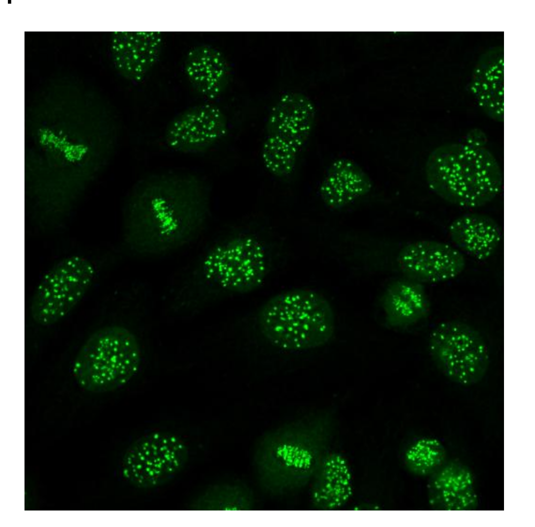


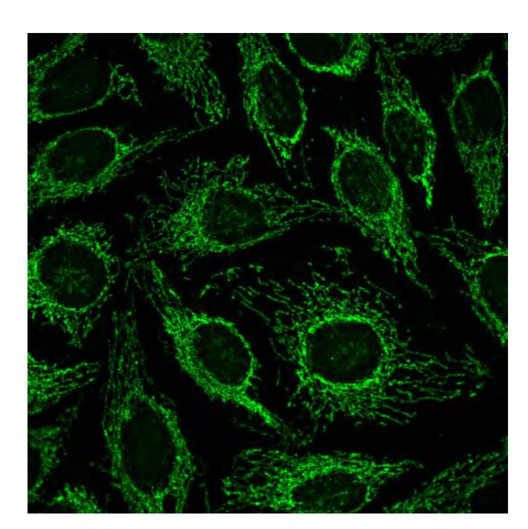


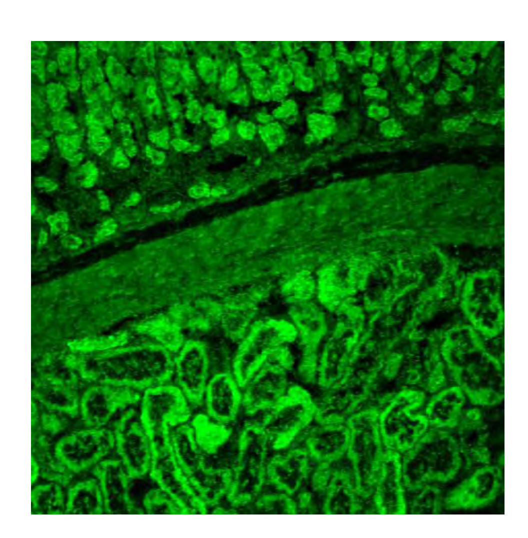
Techniques d'Immunofluorescence

Techniques d'Immunofluorescence Indirectes (IFI)
(Recherche et titration des AUTO-ANTICORPS)









Techniques d'Immunofluorescence: Application

A.Auto-immunité:

•L'immunofluorescence indirecte permet la détection d'auto- anticorps avec les avantages suivants:

-Facilité d'exécution.
-Bonne sensibilité.
-détection de plusieurs anticorps à la fois.

•**L'immunofluorescence indirecte,** sur frottis cellulaire ou coupe d'organe est la méthode de routine la plus utilisée pour dépister de nombreux anticorps.

Techniques d'Immunofluorescence: Application

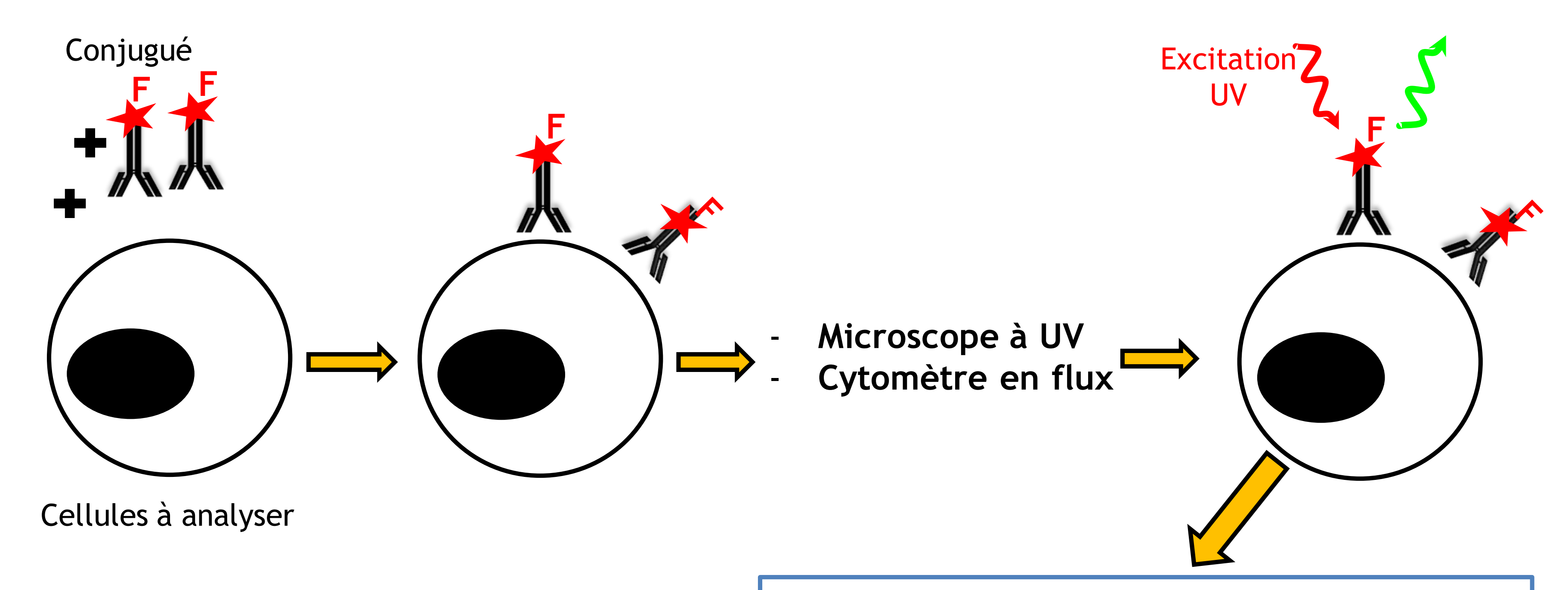
B. Microbiologie:

Identification d'un microorganisme

Recherche d'anticorps anti-microorganisme: Sérologie

Techniques d'Immunofluorescence

Techniques d'Immunofluorescence directes (IFD) (Immunophénotypage cellulaire)



Comptage de nombre de cellules marquées :
1-Microscopie à fluorescence
2-Cytomètrie en flux

Techniques d'Immunofluorescence

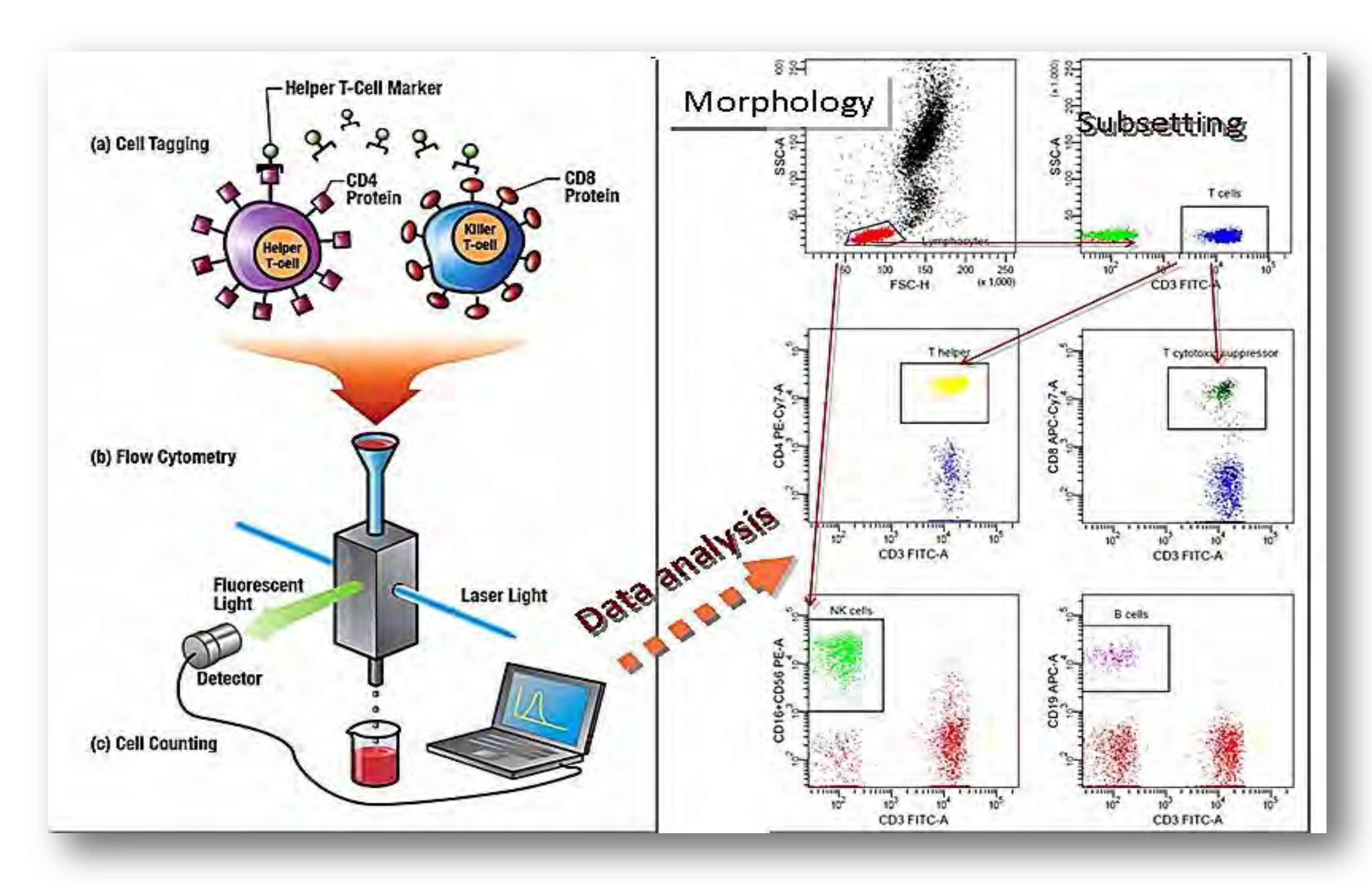
Techniques d'Immunofluorescence directes (IFD)

Applications :

- Identifier un germe.
- Analyser dans une biopsie tissulaire les dépôts d'immunoglobulines et de complément.
- Le phénotypage des populations lymphocytaires .

Techniques d'Immunofluorescence

Techniques d'Immunofluorescence (TRI CELLULAIRE) (Ex Cytométrie en flux)



Techniques d'Immunofluorescence

Techniques d'Immunofluorescence (TRI CELLULAIRE) (Ex Cytométrie en flux)

Avantages:

- Analyse multiparamétrique, qualitatives et quantitatives
- Rapidité d'acquisition
- Analyse d'un grand nombre de cellules
- Grande variété d'application.

Inconvénients:

- Cout d'achat et de maintenance des cytometres
- Mauvaise stabilité de certains fluorochrome

Techniques de chimiluminescence

Les marqueurs chimiluminescents

•La chimiluminescence , est seulement caractérisée par un spectre d'émission (pas de lumière d'excitation).

•La durée d'émission est variable d'une seconde à une dizaine de secondes permettant une lecture rapide.

•Cette lecture est unique car l'émission lumineuse est fugace.

•Il est donc impératif que la lecture se fasse par un automate .

Techniques de chimiluminescence

L'excitation des molécules est due à un apport d'énergie chimique

L'émission de lumière commence immédiatement après le début de la réaction chimique

Avantages:

- Spécificité et intensité du signal permettent d'obtenir une limite de détection basse
- Rapidité de masure (quelques secondes)

Inconvénients:

- Difficulté d'obtenir une mesure précise du signal lumineux qui est souvent fugace et d'intensité fluctuante

Techniques de chimiluminescence Application

